

## El Proyecto Genoma Neandertal; hacia una definición genética del ser humano

### The Neandertal Genome Project; towards a genetic definition of the human species

**Carles Lalueza-Fox**

*Instituto de Biología Evolutiva (CSIC-UPF)*

*Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona*

*Dr. Aiguader 88*

*08003 Barcelona*

*¡Qué obra maestra es el hombre! ¡Cuán noble su razón!  
¡Cuán infinitas sus facultades! En su forma y sus movimientos  
¡Cuán expresivo y maravilloso! ¡Cuán parecido a un ángel en sus acciones!  
¡Cuán parecido a un dios en su entendimiento! ¡Lo más hermoso  
de la tierra! ¡El más perfecto de los animales!*

Hamlet, Shakespeare

**PALABRAS CLAVE: Neandertal, paleogenómica, evolución humana, ultrasecuenciación**

**KEYWORDS: Neandertals, Paleogenomics, Human Evolution, Ultrasequencing**

#### RESUMEN

No existe un consenso científico para definir nuestra especie. El análisis genómico en diferentes poblaciones humanas está poniendo de manifiesto una variación interindividual mayor de la que se había supuesto, por lo cual será difícil, si no imposible, poner un límite a esta variación únicamente desde las poblaciones actuales. En este sentido, el genoma neandertal servirá para disponer de una referencia evolutiva externa, y al mismo tiempo suficientemente cercana en el tiempo, para poder delimitar con certeza qué cambios genéticos están compartidos con los neandertales y cuáles son exclusivos del ser humano. Esto permitirá obtener una definición objetiva de nuestra especie, si bien ésta será al final un complejo listado de variantes genéticas.

#### ABSTRACT

It doesn't exist a scientific consensus for a definition of our own species. The genomic analyses from different human populations is showing a higher than previously expected interindividual variation. Therefore, it will be difficult, if not impossible, to put a limit on this variation from the study of contemporary populations exclusively. In this sense, the Neandertal genome will contribute to have an external evolutionary reference, at the same time close enough to us in time, for unraveling with certainty which genetic variants are shared with Neandertals and which are present in modern humans alone. This will allow us to obtain an objective definition of our own species, although this will be at the end a complex list of genetic variants.

## 1. INTRODUCCIÓN

Nuestra especie, *Homo sapiens*, no dispone de una definición objetiva y consensuada. Desde ámbitos como la morfología o la ciencia cognitiva, se ha intentado repetidamente descubrir rasgos o características no compartidas que nos permitieran entender nuestra unicidad. Sin embargo, las limitaciones inherentes al registro fósil, así como el hecho de disponer como referencia evolutiva una especie muy alejada de la nuestra, el chimpancé (nuestros linajes divergieron hace entre 6 y 7 millones de años), han imposibilitado esta tarea. Ahora, en los inicios del siglo XXI, disponemos de dos factores novedosos que permitirán establecer una definición objetiva del ser humano: la aparición de técnicas de ultrasecuenciación (secuenciación masiva) que han permitido obtener un borrador del genoma neandertal y la aparición, gracias también a dichas técnicas, de proyectos de diversidad genómica humana.

El hecho de poder analizar genomas completos de poblaciones de todos los continentes permitirá conocer el alcance real de las variaciones genéticas dentro de nuestra propia especie. En este sentido, se ha puesto en marcha recientemente un gran proyecto científico, denominado “mil genomas”, que pretende secuenciar completos un millar de dotaciones genómicas. Se había dicho que los humanos somos iguales en un 99,9% del genoma, pero este cálculo se basaba únicamente en la secuencia de ADN. En los últimos años, algunos estudios genómicos han puesto de manifiesto una extraordinaria variación interindividual asociada a duplicaciones de segmentos cromosómicos enteros, un rasgo que, además, parece ser característico del linaje humano (MARQUÈS-BONET *et al*, 2009). El análisis de genomas enteros permitirá conocer realmente que variantes génicas están presentes en todos los humanos y avanzar en el conocimiento de nuestra especie. Sin embargo, el hecho de que la profundidad evolutiva de la variación de numerosos genes nucleares (calculada en parámetros como TMRCA, es decir, “la edad del antepasado común más reciente”) sea muy superior al tiempo de origen de nuestra especie (que son únicamente unos 200 000 años, estimado por el ADN mitocondrial), implica que numerosas características presuntamente humanas van a ser compartidas en realidad por otras especies extinguidas de nuestro linaje, como los neandertales. Eso significa que, en algunos genes en particular, algunos humanos serán más parecidos a los neandertales que a otros humanos. Un ejemplo obvio es el gen del grupo sanguíneo ABO. Sabemos por los estudios de diversidad actual que las variantes genéticas que producen los diferentes alelos, O, A y B tienen antigüedades de entre 1 y 3 millones de años aproximadamente, que claramente son anteriores a la divergencia de humanos modernos y neandertales. Eso significa que los neandertales podían ser de cualquiera de estos grupos, y ahora sabemos que algunos individuos del yacimiento asturiano de El Sidrón eran del grupo O. Pero esto implica también que un humano del mismo grupo sería más semejante a los neandertales para este gen concreto que no a otros humanos que fueran A, B o AB (esta similitud se plasmaría a efectos prácticos en que podría recibir una transfusión de un neandertal, pero no de otros humanos que no fueran también O).

Una posibilidad para sortear estas limitaciones la proporciona el Proyecto Genoma Neandertal, un proyecto científico liderado por Svante Pääbo, del Instituto Max Planck de Antropología Evolutiva de Leipzig (Alemania), que ha conseguido generar un borrador genómico neandertal, y cuya consecución fue presentada públicamente el 12 de febrero de 2009, en la fecha simbólica del bicentenario del nacimiento de Darwin. El hecho de disponer de esta nueva referencia genómica, evolutivamente mucho más cercana a nosotros (nuestro linaje y el de los neandertales divergieron hace unos 500 000 o 600 000 años) que la del chimpancé, permitirá, por vez primera, caracterizar aquellas variantes génicas que son exclusivas de nuestra especie. Estudiando dichos genes podremos entender las presiones selectivas que han actuado sobre nuestro linaje desde su origen.

## 2. PALEOGENÓMICA

En los últimos tres años, el estudio del material genético de restos del pasado, que se había denominado ADN antiguo o *ancient DNA*, y que tuvo un origen muy modesto por lo que respecta al volumen de información recuperada (HOFREITER *et al*, 2001), ha entrado de lleno en la era de la paleogenómica. Se denomina paleogenómica al estudio de la secuencia, estructura y función de genomas extinguidos, tanto del genoma nuclear, que incluye la inmensa mayoría del mensaje genético de un organismo (con una extensión promedio de 3 200 millones de nucleótidos en el caso humano) como de los genomas citoplasmáticos (cuya extensión está cerca de los 16 500 nucleótidos) (HOFREITER, 2008); es decir, el genoma mitocondrial (ADNmt) y el genoma cloroplástico (ADNcp, este último presente únicamente en vegetales). Debido al mayor número de copias de estos genomas citoplasmáticos comparado con el genoma nuclear (la proporción empírica es de 500-1000 a 1), durante más de 20 años la investigación en ADN antiguo se ha basado en la recuperación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (o PCR) de ADNmt o ADNcp de especies extinguidas, normalmente con finalidades filogenéticas o filogeográficas. *A priori*, no existen otros condicionantes, excepto los que derivan de esta mayor dificultad asociada a la conservación, para recuperar fragmentos del genoma nuclear. Esto significa que únicamente en muestras excepcionalmente bien conservadas será posible acceder a datos nucleares.

En el año 2006, se recuperó, también por PCR, el primer gen nuclear completo, en este caso un gen de la pigmentación de un mamut lanudo (RÖMPLER *et al*, 2006) y posteriormente pequeños fragmentos de genes nucleares de los que algunos autores consideran una especie humana extinguida, los neandertales (LALUEZA-FOX *et al*, 2007; KRAUSE *et al*, 2007; LALUEZA-FOX *et al*, 2008). Sin embargo, es evidente que con estas aproximaciones de tipo específico, no es de esperar que se puedan recuperar grandes regiones cromosómicas. La recuperación de un mitogenoma completo de una especie extinguida (los moas, aves gigantescas de Nueva Zelanda) en 2001 (COOPER *et al*, 2001), marcó, y marca todavía, el techo de longitud de ADN recuperado mediante estos procedimientos, ya que el consumo de extracto de ADN es muy elevado y el procedimiento excesivamente lento y laborioso.

### 3. ULTRASECUENCIACIÓN METAGENÓMICA

La PCR es una aproximación específica o *targeted*, en la cual nosotros planificamos que región genética queremos estudiar y diseñamos unos cebadores específicos destinados a conseguir dicho objetivo. Los nuevos proyectos genómicos, entre ellos el genoma neandertal, son de tipo inespecífico o metagenómico.

Se entiende por metagenómica la secuenciación de una muestra en la cual no ha sido posible aislar los diferentes organismos que la componen. Esto requiere que cada secuencia obtenida sea posteriormente identificada mediante alineamientos con las bases de datos genéticas disponibles (HOFREITER, 2008). Las muestras óseas de neandertal, recuperadas de diversos yacimientos pleistocénicos, no solo contienen el ADN del individuo cuando estaba vivo, atrapado en cristales de la matriz de hidroxiapatita del hueso, sino que también contiene grandes cantidades de ADN de bacterias del suelo, hongos, etc., que viven en el sedimento o han colonizado el hueso.

El año 2006, apareció una nueva técnica de ultrasecuenciación, que había sido desarrollada por la compañía tecnológica 454 Life Sciences (MARGULIES *et al*, 2005), aunque actualmente pertenece a Roche: la pirosecuenciación. Para llevar a cabo este tipo de secuenciación se requiere disponer de fragmentos cortos de ADN de cadena doble y extremos romos. Como el ADN antiguo ya está suficientemente degradado, no es necesario fragmentarlo antes de empezar el proceso, un paso obligatorio con ADN actual. Primero, se reparan los extremos, y se extiende el fragmento 3' cuando el que sobresale es el 5' y se recorta el 3' cuando es éste es el que sobresale. Después se añaden a los extremos de cada fragmento de ADN los adaptadores (secuencias cortas específicas para cada proyecto). Uno de los adaptadores está unido a una molécula de biotina y esto hará que se una a unas microesferas de polímero, que están recubiertas en su superficie por moléculas de estreptavidina. Se separan las dobles cadenas con NaOH (o calor) y nos quedamos con una sola cadena de cada fragmento inicial de ADN, eliminándose aquellas que están unidas al polímero. A continuación estas cadenas se amplifican en una PCR emulsionada. En este tipo de PCR, millones de esferas microscópicas, cuya superficie está recubierta por una corta secuencia nucleotídica complementaria a la secuencia de los adaptadores, se emulsionan tras añadir un aceite en una solución acuosa que contiene los reactivos. Como consecuencia de la emulsión, una única cadena de ADN queda individualizada, como dentro de una pompa de jabón, junto con una de estas microesferas, y así, en un único *ependorf*, tienen lugar millones de reacciones PCR. Al final de la reacción, se obtienen centenares de miles de microesferas que tienen su superficie literalmente recubierta de miles de copias de cadena única que derivan de un único fragmento de ADN original (al contrario que una PCR convencional, que puede haber empezado en más de una cadena de ADN). Después, se centrifugan en una microplaca que contiene más de un millón de pocillos que, por su diámetro, únicamente podrán contener una microesfera. Finalmente, se obtiene la secuencia

de cada pocillo, leyéndola desde una secuencia complementaria a la del adaptador externo, mediante una secuenciación por síntesis por SBS. Esta secuenciación se lleva a cabo en presencia de pirofosfatasa y luciferasa, de tal manera que se añade secuencialmente cada uno de los nucleótidos (T,A,C,G y de nuevo T,A,C,G etc). Si el nucleótido se incorpora a la cadena complementaria, se añade un grupo fosfórico que permite a la pirofosfatasa interaccionar con la luciferasa y emitir luz. Es decir, que si se libera T y el primer nucleótido desde el adaptador es una A, la máquina de 454 detectará un haz de luz en ese pocillo concreto. Si es cualquier otro nucleótido, no detectará nada. La progresión de la secuencia es lenta debido a la secuencialidad de lectura. Esto comportó inicialmente que únicamente se pudieran leer secuencias de unos 100 nucleótidos, si bien la nueva generación GS-FLX puede llegar ya a más de 400 nucleótidos de longitud. Con este procedimiento es posible llevar a cabo unas 500 000 secuencias de una única reacción de 454, lo que equivale a unos 100 millones de nucleótidos.

En el año 2008 se lanzaron otras plataformas tecnológicas que han mejorado la capacidad de ultrasecuenciación, algunas hasta límites difíciles de imaginar (al nivel de gigabases de secuencia por cada reacción, en vez de las actuales megabases). Las dos tecnologías más avanzadas son la plataforma de Solexa y la SOLID de Applied Biosystems. De momento tienen el hándicap de que las secuencias obtenidas son todavía más cortas que para las reacciones de 454, y rondan los 35-40 nucleótidos de longitud. Habrá que esperar, en todo caso, a ver cual es la tecnología que termina imponiéndose por razones científicas y de mercado, pero lo importante es que se han puesto al alcance proyectos genómicos de especies extinguidas, sin más limitaciones que las económicas.

#### 4. EL PROYECTO GENOMA NEANDERTAL

El 20 de julio del año 2006, el instituto Max Planck de Antropología Evolutiva de Leipzig –liderado por el profesor Svante Pääbo- y la compañía tecnológica 454 Life Sciences (ahora perteneciente a Roche Diagnostics) iniciaron oficialmente el proyecto Genoma Neandertal. El objetivo era obtener en dos años un borrador razonablemente completo del genoma de esta otra especie humana, con un presupuesto que rondaba los cinco millones de euros. Su finalización se anunció públicamente el 12 de febrero de 2009.

El primer resultado de este proyecto se publicó en *Nature* y en *Science* en el año 2006, a partir de datos generados de la muestra del yacimiento croata de Vindija, etiquetada como Vi 33.16 (GREEN *et al*, 2006; NOONAN *et al*, 2006; PENNISI 2006). En el artículo de *Nature* se mostraban los datos generados por 454, y comprendían un total de 254933 secuencias. De éstas, únicamente 15 701, es decir, el 6,2%, eran secuencias humanas o muy parecidas (como esperaríamos de los neandertales), mientras que cerca de 40000 eran secuencias de bacterias, hongos u otros microorganismos. Unas 200000 secuencias, es decir, el 79%, no encontraron equivalente en las bases de datos

genéticas, probablemente porque correspondían a bacterias todavía no estudiadas. De las secuencias humanas, 41 correspondían a fragmentos del ADN mitocondrial, y 15701 correspondían a casi un millón de nucleótidos del genoma neandertal (es decir, cerca del 0,04% del total del genoma). Estas secuencias tenían en promedio una longitud cercana a los 60 nucleótidos, yendo desde los 30 (las secuencias más cortas se eliminan del análisis) hasta los 280 (límite impuesto por la técnica de 454). 739966 nucleótidos del total de 1 millón eran idénticos en neandertales, humanos modernos y chimpancés, 10208 eran idénticos en neandertales y humanos pero distintos en chimpancés. Finalmente, 422 nucleótidos eran únicos del linaje humano y 3447 del linaje neandertal (de estos últimos, la mayoría correspondían a daños químicos post-mortem debidos a alteraciones de las citosinas originales).

Posteriormente, este trabajo fue criticado porque había varios indicios que apuntaban a una posible contaminación del extracto con ADN moderno, un accidente que probablemente tuvo lugar en la propia compañía Life Sciences. Unos investigadores (WALL & KIM, 2007) descubrieron, analizando los datos, que las secuencias de mayor longitud (de más de 100 nucleótidos) daban tiempos de divergencia genómica entre neandertales y cromañones que eran absurdamente recientes, mientras que las secuencias más cortas daban fechas cercanas a los 800 000 años. Esto únicamente podía explicarse si las secuencias más largas eran contaminaciones recientes (que, por lo tanto, no habían tenido tiempo de fragmentarse tanto como el ADN original). Algunos cifraron esta posible contaminación en más de un 50% de las secuencias obtenidas, si bien posteriores reacciones de pirosecuenciación del extracto original para cuantificar las secuencias contaminantes del ADN mitocondrial lo rebajaron hasta un 11%. No obstante estos problemas metodológicos, la finalización del mitogenoma neandertal de Vindija 33.16 (GREEN *et al*, 2008), con una contaminación de tan sólo el 0,3%, demostró la potencialidad de la aproximación metagenómica en la consecución del genoma neandertal.

El desarrollo de una técnica de enriquecimiento (denominada PEC) de las librerías genómicas para regiones cromosómicas específicas o para el mitogenoma mediante la utilización de cebadores específicos ligados a las cuentas de polímero de la reacción 454 ha representado una posterior mejora tecnológica que ha ayudado a superar la extraordinaria ineficiencia de la recuperación del ADN endógeno. La primera aplicación de esta técnica ha consistido en la obtención, después de Vindija 33.16, de cinco mitogenomas completos más (Feldhofer, individuos 1 y 2, Vindija 33.25, Mezmaiskaya, individuo 1 y El Sidrón 1253) y de dos parciales (Mezmaiskaya 2 y El Sidrón 1351e) (BRIGGS *et al*, 2009).

Por ejemplo, en la muestra de El Sidrón etiquetada como 1253, únicamente 1 de cada 2 000 secuencias obtenidas originalmente era del ADN mitocondrial. Esto significaba que, para generar el mitogenoma sin más modificaciones técnicas, se necesitarían unas 1 100 reacciones completas de pirosecuenciación, lo cual era económicamente inviable. Pero después de enriquecer el extracto de El Sidrón



1253 para el mitocondrial con cebadores PEC, las secuencias de éste pasaban a representar el 40,2% del total, lo que significaba un incremento de 80 400 veces respecto a su presencia en el extracto original. Al mismo tiempo, se pudo constatar que dicha muestra presentaba el nivel de contaminantes más bajo jamás descrito en una muestra neandertal, llegando únicamente a representar el 0,27% de las secuencias mitocondriales obtenidas. Esto debe atribuirse sin duda al hecho de que la excavación de El Sidrón se lleva a cabo con trajes de laboratorio estériles y a que las muestras son congeladas inmediatamente y enviadas a los laboratorios para su análisis genético (FORTEA *et al*, 2008). En todo el proceso, la posible contaminación queda prácticamente eliminada, como se demuestra comparando los resultados obtenidos en muestras extraídas antes y después de la implementación de dicho protocolo de anticontaminación (FORTEA *et al*, 2008).

Los datos de los seis mitogenomas han permitido estimar, gracias al concepto de reloj molecular, la fecha de origen de la variación mitocondrial neandertal, que se ha situado en hace únicamente 110 000 años. Esto indica que la “Eva mitocondrial neandertal” era más reciente que nuestra “Eva mitocondrial”, que se sitúa en África hace unos 150 000 años. Además, estas fechas son coincidentes con dos evidencias independientes: la recuperación de las temperaturas después del dramático máximo glacial correspondiente al estadio isotópico 6, que finalizó hace unos 135000 años, y la aparición en el registro fósil de la morfología neandertal típica, representada por restos como los de Krapina (Croacia) o Saccopastore (Italia), datados en hace unos 130 000 años. Los tiempos al antecesor común más reciente suelen ir acompañados de una gran varianza. Por ello, yo personalmente no haría excesivo hincapié en correlacionar este dato con otras variables geológicas, paleontológicas o antropológicas. En cualquier caso, a la fecha de 110 000 años (obtenida después de sumar la antigüedad promedio de los seis mitogenomas, que lógicamente tiene un cierto margen de error), habría que sumar los aproximadamente 30 000 que llevan extinguidos los neandertales, lo que nos daría una fecha de 140 000, más cercana a los 150 000 de la supuesta Eva mitocondrial humana. Parece evidente que las poblaciones neandertales fueron modeladas demográficamente por procesos climáticos que determinaron fuertes cuellos de botella poblacionales. En este sentido, la historia evolutiva de los neandertales, que iremos conociendo con más detalle a medida que se acumulen más evidencias genéticas, va a ser probablemente más complicada que la nuestra propia, que es simplemente un proceso de sucesivas expansiones fuera de África. Con toda probabilidad, la suya estará marcada por procesos repetidos de colapsos poblacionales asociados a máximos glaciales y por posteriores reexpansiones fuera de los refugios glaciales del sur de Europa. Otros indicios obtenidos a partir de sus mitogenomas indican que no sólo sufrieron un cuello de botella hace más de cien mil años, sino que a lo largo de su historia, su tamaño demográfico siempre se mantuvo muy bajo. Esto explica que su diversidad genética fuera mucho menor que la de los humanos actuales, e incluso ligeramente inferior a la de los europeos actuales.

## 5. DESPUÉS DEL BORRADOR GENÓMICO NEANDERTAL

En realidad, el borrador tal como está en 2009 tiene una redundancia genómica de 1x, lo que significa que aproximadamente el 63% del genoma tendrá alguna secuencia. Para llegar a esta cifra, se han tenido que obtener cerca de 68 000 millones de secuencias, la inmensa mayoría de ADN bacteriano (PENNISI, 2009). Obviamente, existen en el borrador muchos espacios en blanco y muchos cambios génicos que deberán ser comprobados posteriormente con medios específicos, ya sea con PCR u otros que puedan desarrollarse en el futuro. Se ha calculado que, para obtener un borrador genómico con una tasa de error de 1 de cada 10 000 nucleótidos (más que aceptable en los proyectos con especies vivas), se necesitaría una redundancia genómica de 12 (es decir, que cada nucleótido estuviera representado, en promedio, por 12 secuencias diferentes superpuestas). Obviamente, no será posible conseguir este nivel de fiabilidad en este primer proyecto, pero los datos podrán irse refinando en el futuro y contrastando con muestras adicionales.

Cuando todo este trabajo esté finalizado, nos encontraremos con una larga lista de genes cuya variación se distribuirá de forma diferente entre las tres especies: chimpancés, neandertales y humanos. Tendremos, obviamente, muchos genes que serán idénticos en las tres especies; esto no es sorprendente porque cerca de 14 000 de los aproximadamente 24 000 genes que se han identificado en nuestro genoma ya son iguales entre humanos y chimpancés. Se ha estimado que entre neandertales y humanos existirán entre 1 000 y 2 000 cambios funcionales, es decir, que modifiquen aminoácidos en regiones codificantes.

Tendremos genes que serán idénticos en humanos y neandertales y diferentes en chimpancés. El gen *FOXP2*, asociado a áreas cerebrales implicadas en el lenguaje y que presenta dos cambios funcionales en ambas especies del linaje humano (ENARD *et al*, 2002), es un ejemplo de esta categoría de genes. Sencillamente, implica que algunos de los cambios evolutivos asociados al lenguaje debieron tener lugar antes de la separación de ambos linajes, en el antepasado común. El gen del grupo sanguíneo ABO es otro ejemplo interesante. La caracterización de este gen en dos muestras masculinas de El Sidrón, 1253 y 1351c, ha permitido saber que estos individuos eran del grupo sanguíneo O, por los mismos motivos (una delección de un nucleótido en el exón 6) que los humanos modernos (LALUEZA-FOX *et al*, 2008). Esto no es sorprendente, pero ilustra algo que también será común en el genoma neandertal: el hecho de que, para genes concretos, algunos humanos estén más próximos a los neandertales que a otros humanos.

Tendremos también genes con cambios que serán únicos en la rama de los neandertales. El gen *MC1R*, asociado a la pigmentación, muestra variantes únicas de los neandertales (como un cambio en el aminoácido 307), aunque, curiosamente, algunas producen un fenotipo parecido al producido en algunos europeos (los individuos pelirrojos) por otras variantes en el mismo gen (VALVERDE *et al*, 1995;



LALUEZA-FOX *et al*, 2007; CULOTTA, 2007). Esto sugiere que quizás otros rasgos morfológicos (como la expansión cerebral observada en diversas ramas del árbol evolutivo humano) sean consecuencia de procesos de evolución convergente, debido a constreñimientos genómicos en la adaptación de los homínidos. Es decir, aunque las mutaciones ocurren al azar en el genoma, la distribución final de dichas mutaciones no lo es, ya que su efecto en el fenotipo está influido por la función y estructura de los genes y sus posibles interacciones. Los cambios exclusivos de los neandertales deberán ser comprobados uno a uno mediante estudios funcionales como el que se llevó a cabo con el *MC1R* (LALUEZA-FOX *et al*, 2007). Algunos de ellos requerirán de la implementación de modelos animales, básicamente mediante la “neandertalización” de ratones, para entender su efecto fenotípico final.

Finalmente, tendremos una serie de genes con cambios únicos en la rama de los humanos, que no estarán compartidos con los neandertales. Los cambios funcionales en estos genes, de los cuales todavía no conocemos ninguno, son los que nos permitirán definirnos como seres humanos y crear por primera vez una definición objetiva de nuestra especie. No cabe duda que esta información influirá en el futuro en la visión que tendremos de nosotros mismos y de nuestra posición en el mundo natural, culminando un proceso que comenzó Darwin hace ahora 150 años con la publicación del *Origen de las especies*.

#### BIBLIOGRAFÍA

- BRIGGS, A. W., GOOD, J. M., GREEN, R. E., KRAUSE, J., MARICIC, T., STENZEL, U., LALUEZA-FOX, C., RUDAN, P., BRAJKOVIĆ, D., KUČAN, Z., GUŠIĆ, I., SCHMITZ, R., SCHMAUDER, M., DORONICHEV, V. B., GOLOVANOV, L. V., FORTEA, J., RASILLA, M. DE LA, ROSAS, A. & PÄÄBO, S. 2009. Targeted sequence capture and analysis of multiple Neandertal mitochondrial genomes (en preparación).
- COOPER, A., LALUEZA-FOX, C., ANDERSON, S., RAMBAUT, A., AUSTIN, J. & WARD, R. 2001. Complete mitochondrial genome sequences of two extinct moas clarify ratite evolution. *Nature*. **409**:704-707.
- CULOTTA, E. 2007. Ancient DNA Reveals Neandertals With Red Hair, Fair Complexions. *Science*. **318**: 546.
- ENARD, W., PRZEWORSKI, M., FISHER, S. E., LAI, C. S., WIEBE, V., KITANO, T., MONACO, A. P. & PÄÄBO, S. 2002. Molecular evolution of FOXP2, a gene involved in speech and language. *Nature* **418**: 869-872.
- FORTEA, J., RASILLA M., GARCÍA-TABERNERO, A., GIGLI, E., ROSAS, A., & LALUEZA-FOX, C. 2008. Excavation protocol of bone remains for Neandertal DNA analysis in El Sidrón cave (Asturias, Spain). *Journal of Human Evolution* **55** (2): 353-357.
- GREEN, R. E., KRAUSE, J., PTAK, S. E., BRIGGS, A. W., RONAN, M. T., SIMONS, J. F., DU, L., EGHOLM, M., ROTHBERG, J. M., PAUNOVIC, M., & PÄÄBO, S. 2006. Analysis of one million base pairs of Neandertal DNA. *Nature* **444**:330-336.
- GREEN, R. E., MALASPINAS, A. S., KRAUSE, J., BRIGGS, A., JOHNSON, P. L. F., UHLER, C., MEYER, M., GOOD, J. M., MARICIC, T., STENZEL, U., PRÜFER, K., SIEBAUER, M., BURBANO, H. A., RONAN, M., ROTHBERG, J. M., EGHOLM, M., RUDAN, P., BRAJKOVIĆ, D., KUČAN, Z., GUŠIĆ, I., WIKSTRÖM, M., LAKKONEN, L., KELSO, J., SLATKIN, M. & PÄÄBO, S. 2008. A complete Neandertal mitochondrial genome sequence determined by high-throughput sequencing. *Cell* **134**: 416-426 .
- HOFREITER, M. 2008. Paleogenomics. *Comptes Rendus Palevol* **7**: 113-124.

- HOFREITER, M., SERRE, D., POINAR, H. N., KUCH, M., & PÄÄBO, S. 2001. Ancient DNA. *Nature Reviews* **2**: 353-359.
- KRAUSE, J., LALUEZA-FOX, C., ORLANDO, L., ENARD, W., GREEN, R.E., BURBANO, H. A., HUBLIN, J.-J., BERTRANPETIT, J., HÄNNI, C., RASILLA, M. DE LA, FORTEA, J., ROSAS, A., & PÄÄBO, S. 2007. The derived FOXP2 variant of modern humans was shared with Neanderthals. *Current Biology* **17** (21):1908-1912.
- LALUEZA-FOX, C., RÖMPLER, H., CARAMELLI, D., STÄUBERT, C., CATALANO, G., HUGHES, D., ROHLAND, N., PILLI, E., LONGO, L., CONDEMI, S., RASILLA, M. DE LA, FORTEA, J., ROSAS, A., STONEKING, M., SCHÖNEBERG, T., BERTRANPETIT, J., & HOFREITER, M. 2007. A melanocortin 1 receptor allele suggests varying pigmentation among Neanderthals. *Science* **318**:1453-1455.
- LALUEZA-FOX, C., GIGLI, E., RASILLA, M. DE LA, FORTEA, J., ROSAS, A., BERTRANPETIT, J., & KRAUSE, J. 2008. Neandertal paleogenomics in the ABO blood group gene. *BMC Evolutionary Biology* **8**: 342.
- MARGULIES, M., EGHOLM, M., ALTMAN, W. E., ATTIIYA, S., BADER, J. S., BEMBEN, L. A., BERKA, J., BRAVERMAN, M. S., CHEN, Y. J., CHEN, Z., *et al*, 2005. Genome Sequencing In Microfabricated High-Density Picolitre Reactors. *Nature* **437**: 376-380.
- MARQUÈS-BONET, T., KIDD, J. M., VENTURA, M., GRAVES, T. A., CHENG, Z., HILLIER, L. W., JIANG, Z., BAKER, C., MALFAVON-BORJA, R., FULTON, L. A., ALKAN, C., AKSAY, G., GIRIRAJAN, S., SISWARA, P., CHEN, L., CARDONE, M. F., NAVARRO, A., MARDIS, E. R., WILSON, R. K. & EICHLER, E. E. 2009. A burst of segmental duplications in the genome of the African great ape ancestor. *Nature*. **457**:877-881.
- NOONAN, J. P., COOP, G., KUDARAVALLI, S., SMITH, D., KRAUSE, J., ALESSI, J., CHEN, F., PLATT, D., PÄÄBO, S., PRITCHARD, J. K., & RUBIN, E. M. 2006. Sequencing and Analysis of Neanderthal Genomic DNA. *Science* **314**:1113-1118.
- PENNISI, E. 2006. Paleogenetics. The dawn of Stone Age genomics. *Science* **314**:1068-1071.
- PENNISI, E. 2009. Tales of a prehistoric human genome. *Science* **323**: 866-871.
- RÖMPLER, H., ROHLAND, N., LALUEZA-FOX, C., WILLERSLEV, E., KUZNETSOVA, T., RABEDER, G., BERTRANPETIT, J., SCHÖNEBERG, T., & HOFREITER, M. 2006. Nuclear gene indicates coat-color polymorphism in mammoths. *Science* **313**: 62.
- VALVERDE, P., HEALY, E., JACKSON, I. J., REES, J. L., & THODY, A. J. 1995. Variants of the melanocyte-stimulating hormone receptor gene are associated with red-hair and fair skin in humans. *Nature Genetics* **11**: 328-330.
- WALL, J. D., & KIM, S. K. 2007. Inconsistencies in Neanderthal genomic DNA sequences. *PLoS Genet.* **10**:1862-1866.